Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.37- 54

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص. 54-37

ارزیابی اثر اسید لاکتیک بر ویژگی‌های بافتی و الگوی پروتئولیز عضله دو سر ران شتر یک کوهانه

مهسان ایرجی‌فر[1]- محمد جواد وریدی[2*]- مهدی وریدی[2]- یونس زاهدی[3]

تاریخ دریافت: 1396/03/03
تاریخ پذیرش: 1396/10/26

چکیده

در این تحقیق اثر ماریناد اسید لاکتیک (در چهار غلظت صفر، 0/5، 1 و 1/5 درصد) وکلرید سدیم (2 درصد) طی زمان‌های غوطه‌وری صفر، 24، 48 و 72 بر ویژگی‌های بافتی، حسی و الگوی پروتئولیز عضله دو سر ران (*Biceps femoris*) شتر یک کوهانه بررسی شد. طول سارکومر، شاخص تجزیه میوفیبریل، نیروی برشی وارنر- براتزلر، میزان کلاژن، آنالیز حسی و الگوی پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی با استفاده از SDS-PAGE مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با افزایش غلظت اسید و زمان نگهداری نمونه‌ها، میزان نیروی برشی و کلاژن کاهش پیدا کرد درحالی‌که شاخص تجزیه میوفیبریل و طول سارکومر افزایش یافت. همچنین نتایج حاصل از SDS-PAGE نشان داد که اثر زمان بر مساحت باند (به‌عنوان شاخصی از پروتئولیز) زنجیره سنگین میوزین معنی‌دار نبود (p>0/05). درحالی‌که غلظت اسید اثر افزایشی معنی‌داری بر مساحت زنجیره سنگین داشت (p<0/05). در رابطه با پروتئین‌های c، α-اکتینین و اکتین هم غلظت و هم زمان اثر معنی‌دار و افزایشی در مساحت داشتند (p<0/05)، اما بر سایر باندها اثر معنی‌داری گزارش نشد (p>0/05). ارزیابی حسی نیز حاکی از تاثیر معنی‌دار ماریناد بر تردی و پذیرش کلی گوشت بود، به‌طوری که غلظت 1/5 درصد اسید بیشترین پذیرش و تردی را نشان داد (p<0/05). نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ماریناد اسید لاکتیک می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر بر ویژگی‌های بافتی و پروتئولیز عضله دوسر ران شتر به‌کار رود.

واژه‌های کلیدی: اسید لاکتیک، ویژگی‌های بافتی، شتر، عضله دوسر ران

مقدمه

بعد از دهه 90 میلادی به علت خشک‌سالی‌های زیاد، توجه کشورها به لزوم افزایش تحقیقات علمی در زمینه پرورش شتر معطوف گردید زیرا به‌عنوان یک دام مولد می‌تواند در شرایط بحرانی نیاز جامعه را با تولیدات خود تأمین کند (Faye and Bonnet, 2012). از طرفی با افزایش تقاضا برای مصرف گوشت شتر، توجه به کیفیت و ترکیبات شیمیایی آن اهمیت بیشتری پیدا کرده است.

گوشت شتر در مقایسه با گوشت گاو یک فراورده سالم محسوب می‌شود، زیرا دارای چربی و کلسترول کمتر و اسیدهای چرب چند غیراشباعی بیشتر است . (Kadim *et al*., 2009 a & 2006). اما مقدار کلسیم گوشت شتر بیشتر از گوشت گاو بوده و سفت بودن آن تا حدودی مربوط به این مسئله است (Kadim *et al*., 2008). نظربه اینکه در بین ویژگی‌های کیفی گوشت، بافت بیشترین اهمیت را از نظر مصرف‌کننده دارد، بنابراین ماریناد اسیدی می‌تواند از طریق نفوذ محلول و انتشار آن در طی زمان به‌عنوان یک روش مؤثر جهت بهبود تردی استفاده شود (Yusop *et al*., 2010). Hosseini و Esfahani Mehr (2015) اثر اسیدهای لاکتیک و سیتریک را بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و الگوی الکتروفورزی برگر گوشت گاو بررسی کردند. Burke و Monahan (2003) تأثیر اسیدهای آلی (استیک، سیتریک و لاکتیک) و مخلوط آب مرکبات را به‌عنوان عامل تردکننده بر پارامتر تردی گوشت گاو گزارش کردند. Desmond و Troy (2001) تأثیر اسیدهای لاکتیک و سیتریک را بر گوشت گاو با ارزش پایین (که به دلیل بالاتر بودن مقدار بافت هم‌بند در آن‌ها سفت‌تر هستند) مورد استفاده برای فراورده‌های گوشتی بررسی کردند. همچنین محققان دیگر اثرات اسید سیتریک و استیک بر پارامترهای کیفی به‌ویژه تردی را مورد بررسی قرار دادند (Oreskovich *et al*., 1993 ؛ Klinhom *et al*, 2011؛ ke *et al*.,2009). اسید لاکتیک عموماً به‌عنوان یک اسید طبیعی که محصول تخمیر طی تولید مواد غذایی است شناخته شده است. در صنعت گوشت از اسید لاکتیک طی مراحل کشتار و فراوری، به‌عنوان یک ترکیب دارای خاصیت ضدمیکروبی و به‌منظور جلوگیری از گسترش باکتری *اشرشیاکلی* O157:H7 و باکتری‌های بیماری‌زای دیگر استفاده می‌شود. این اسید

1 و2- به‌ترتیب دانشجوی دکترا و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
3- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی.
(* - نویسنده مسئول: (Email: mjvaridi@um.ac.ir
DOI: 10.22067/ifstrj.v0i0.64625

همزمان با خاصیت ضدمیکربی باعث بهبود تردی گوشت نیز می‌گردد (Hinkle *et al.*,2010). از طرفی با توجه به مصرف گسترده اسید لاکتیک در صنایع غذایی و اینکه تاکنون در زمینه اثر همزمان اسید لاکتیک و کلرید سدیم بر روی گوشت شتر مطالعه‌ای صورت نگرفته است. این تحقیق با هدف ارزیابی اثر اسید لاکتیک و کلرید سدیم بر ویژگی‌های بافتی، حسی و الگوی پروتئولیز گوشت شتر انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تعداد 6 نفر شتر با سن تقریبی 7-6 سال انتخاب و با روش متداول در کشتارگاه صنعتی مشهد کشتارشده و پس از 24 ساعت نگهداری در یخچال (2±5 درجه سانتی‌گراد)، عضله *بایسپس فموریس* جدا و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه منتقل گردید. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند و از شرکت‌های مرک (آلمان) و سیگما (آمریکا) تهیه شدند.

آماده‌سازی نمونه‌ها

نمونه‌های تهیه شده در شرایط سرد سریعاً به آزمایشگاه گوشت منتقل و لایه‌های مشهود چربی آن تا حد الامکان حذف گردید. در این مرحله گوشت به قطعاتی با ابعاد 5×2×2 سانتی‌متر مکعب تقسیم شد. وزن تمامی نمونه‌ها دراین مرحله یادداشت گردید. سپس در محلول‌های ماریناد شامل اسید لاکتیک با غلظت‌های صفر، 0/5، 1، 1/5 درصد به همراه نمک کلرید سدیم 2 درصد غوطه ورگردید. لازم به ذکر است pH محلول‌های ماریناد شده با اسید در محدوده 2/11-2/38 قرار داشت. بعد ازغوطه‌وری، به‌منظور افزایش بازدهی و یکنواخت شدن توزیع محلول‌های اسیدی در قسمت‌های مختلف گوشت، نمونه‌ها در داخل محلول‌های اسیدی طی مدت زمان‌های صفر، 24، 48 و 72 ساعت در دمای یخچال نگهداری گردیدند (نسبت محلول به گوشت 4 به 1 در نظر گرفته شد، به‌طوری که نمونه‌های گوشت کاملاً در محلول‌های ماریناد غوطه‌ور شده بودند). بعد از گذشت زمان‌های مربوطه، نمونه‌های گوشت ازداخل محلول‌ها خارج شده و پس ازخشک کردن محلول اضافی توسط حوله‌های بدون پرز، روی آنها آزمایشهای ذیل روی نمونه‌های گوشت انجام گرفت.

ترکیب شیمیایی (رطوبت، پروتئین،چربی و خاکستر)

برای اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی گوشت شتر (رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر) از استاندارد AOAC (2002) استفاده گردید.

طول سارکومر

برای اندازه‌گیری طول سارکومر از روش Botha و همکاران (2007) استفاده شد. مقدار 4 گرم نمونه با ابعاد $1\times1\times1 cm^3$ داخل ظرفی حاوی 15-10 میلی‌لیتر محلول 2/5 درصد وزنی- حجمی گلوتاریک دی‌آلدهید A (شامل گلوتاریک دی‌آلدهید 2/5 درصد، کلرید پتاسیم 0/1 مولار، اسید بوریک 0/039 مولار و تری تریپلکس III 5 میلی‌مولار) به یخچال منتقل گردید. پس از گذشت 24 ساعت، قطعه گوشت از محلول خارج شده و وارد 15 میلی‌لیتر محلول 2/5 درصد وزنی- حجمی گلوتاریک دی‌آلدهید B (شامل گلوتاریک دی‌آلدهید 2/5 درصد، کلرید پتاسیم 0/25 مولار، اسیدبوریک 0/29 مولار و تری‌تریپلکس III 5 میلی‌مولار) گردید و تا زمان هموژنیزاسیون در یخچال نگهداری گردید. پس از طی این زمان، ابتدا قطعه گوشت از ظرف خارج و به فالکون 50 میلی‌لیتری انتقال داده شد و 15 میلی‌لیتر محلول 2/5 درصد وزنی- حجمی گلوتاریک دی‌آلدهید B به آن اضافه گردید. سپس توسط هموژنایزر با دور 17000 rpm به مدت 30 ثانیه هموژنیزه شد. سپس یک قطره از محلول روی لام منتقل شده و تصویربرداری به‌وسیله میکروسکوپ نوری (Olympus ،BH2، ژاپن) متصل به دوربین (Olympus، ژاپن) با بزرگنمایی ×100 انجام شد. در انتها تصاویر به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Image J آنالیز شدند.

شاخص تجزیه میوفیبریل (MFI)[1]

شاخص تجزیه میوفیبریل با روش زاهدی و همکاران (1393) اندازه‌گیری شد. برای این منظور، 4 گرم گوشت چرخ شده با 40 میلی‌لیتر بافر MFI (متشکل از کلرید پتاسیم 100 میلی‌مولار، فسفات پتاسیم (pH معادل 7) 20 میلی‌مولار (K_2HPO_4 10 میلی‌مولار+ KH_2PO_4 10 میلی‌مولار)، EDTA 1 میلی‌مولار، کلرید منیزیم 1 میلی‌مولار و آزید سدیم 1 میلی‌مولار) به لوله فالکون منتقل گردید و به مدت 30 ثانیه توسط اولتراتوراکس (Ultra-Turrax، T25 Digital Homogenizer، IKA، آلمان) با دور 8000rpm هموژن گردید. سپس مخلوط حاصل از هموژنیزاسیون به مدت 15 دقیقه با نیروی ×1000g سانتریفوژ شد. پس از دور ریختن محلول رویی، مجدداً به رسوب موجود در فالکون، 40 میلی‌لیتر بافر MFI اضافه گردید و به مدت 15 -10 ثانیه ورتکس شد. پس از سانتریفوژ کردن با نیروی ×1000g به مدت 15 دقیقه و دور ریختن محلول رویی، 10 میلی‌لیتر بافر MFI به رسوب موجود در فالکون اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت 15-10 ثانیه ورتکس گردید و از توری با مش 18 عبور داده شد و 10 میلی‌لیتر دیگر بافر MFI برای شست‌وشوی باقیمانده رسوب پشت صافی اضافه شد. غلظت پروتئین محلول زیر صافی از طریق روش بیورت تعیین شد. منحنی استاندارد این نمونه توسط آلبومین سرم گاوی تهیه شد. پس از تعیین غلظت پروتئین موجود در سوسپانسیون، غلظت محلول پروتئینی تا 0/5 mg/ml با استفاده از

1 Myofibrillar Fragmentation Index (MFI)

بافر MFI رقیق شد و دوباره جذب با روش بیورت قرائت گردید. سپس عدد جذب حاصل در 200 ضرب شد تا MFI واقعی به‌دست آید.

$$MFI=A_{540}\times 200 \quad (1)$$

آنالیز بافت

مقدار نیروی لازم برای برش دادن نمونه‌های تیمار شده گوشت به روش Byrne و همکاران (2000) و با استفاده از دستگاه بافت‌سنج (TA. XT plus، Stable Micro Systems، انگلیس) اندازه‌گیری شد. 50 گرم نمونه گوشت با ضخامت حدود 1/5 سانتی‌متر از هر یک از تیمارهای گوشت جدا شده و داخل کیسه پلاستیکی پلی‌اتیلنی قرار گرفت. سپس کیسه پلاستیکی حاوی گوشت داخل بن ماری با دمای 80 درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار داده شد. پس از طی زمان تعیین شده، کیسه پلاستیکی حاوی نمونه در زیر شیر آب، سرد گردید. سپس گوشت از داخل کیسه بیرون آورده شد و سطح آن توسط دستمال حوله‌ای خشک شده و توزین گردید. نمونه‌ها 24 ساعت داخل یخچال نگهداری شد. سپس قطعات گوشت تهیه شده به گونه‌ای در دستگاه قرار گرفتند که تیغه وارنر- براتزلر بتواند به‌طور عمودی و با سرعت 200 میلی‌متر بر دقیقه فیبرهای عضله را قطع نماید و سپس نتایج بر اساس نیوتن گزارش گردید.

آزمون کلاژن

اندازه‌گیری میزان کلاژن با استفاده از AOAC (1993) انجام شد. جهت هیدرولیز، 4 گرم نمونه چرخ شده به همراه 35 میلی‌لیتر اسید سولفوریک 7 نرمال در ارلن مایر اضافه گردید. سپس آن را داخل آون با دمای 1±105 درجه سانتی‌گراد و به مدت 16 ساعت قرار داده شد. پس از این مرحله محتویات داخل ارلن مایر به‌صورت گرم به داخل بالن منتقل شده وتا حجم 500 میلی‌لیتر با آب به حجم رسانده شد. در مرحله بعدی به کمک یک عدد کاغذ صافی به داخل ارلن مایر صد میلی‌لیتر صاف گردید. سپس از نمونه‌های صاف شده به میزان 5 میلییتر برداشته و در داخل بالن ژوژه صد میلی‌لیترمنتقل نموده و آنگاه با کمک آب مقطر به حجم رسانیده و در مرحله بعدی مقدار 2 میلی‌لیتراز رقت به‌دست آمده را به‌صورت دوتایی در لوله آزمایش ریخته و یک میلی‌لیتر محلول کلرآمین (T 1/4 درصد) اضافه نموده و به مدت 22-18 دقیقه در دمای اتاق نگهداری و بالاخره یک میلی‌لیتر معرف رنگی (4- دی‌متیل آمینو بنزآلدهید)[1] روی آن ریخته و پس از مخلوط نمودن در لوله را بسته و در بن ماری با حرارت 5±60 به مدت 15 دقیقه قرار داده شده و پس از آن زیر شیر آب سرد به مدت سه دقیقه خنک گردید. سپس میزان جذب نوری محلول رنگی داخل آن که در اثر اکسید شدن هیدروکسی پرولین به وسیله کلرآمین–T و تبدیل آن به پیرول[2] ایجاد شده بود در طول موج 2±558 نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر قرائت گردید. به‌منظور تعیین میزان هیدروکسی پرولین نمونه‌های مجهول ابتدا منحنی کالیبراسیون با استفاده از محلول استاندارد هیدروکسی پرولین تهیه گردید. سپس به‌ترتیب میزان هیدروکسی پرولین و کلاژن از فرمول‌های زیر محاسبه گردید.

$$H,g/100\,gr=(2.5h)/(m\,v) \quad (2)$$

$$B,g/100\,gr=H\times 8 \quad (3)$$

h: میزان هیروکسی پرولین بر حسب میکروگرم در 2 میلی‌لیتر محلول صاف شده T، m: وزن نمونه برداشتی برای آنالیز، V: حجم محلول صاف شده برداشتی برای تهیه رقت تا 100 میلی‌لیتر در مرحله هیدرولیز، B: بافت پیوندی کلاژنی موجود در نمونه مورد آنالیز.

الکتروفورز SDS-PAGE

به‌منظور استخراج پروتئین‌های میوفیبریلی و شناسایی الگوی پروتئولیز از روش الکتروفورز یک بعدی استفاده گردید. 2/5 گرم گوشت چرخ شده از هر نمونه با 25 میلی‌لیتر محلول بافر حاوی ساکارز 0/25 مولار، تریس 0/05 مولار و EDTA 1 میلی مولار، با دور 16000rpm به مدت 30 ثانیه هموژن شد. سپس به مدت 10 دقیقه با نیروی 1000xg سانتریفیوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد. رسوب باقیمانده با 25 میلی‌لیتر محلول بافرحاوی تریس 0/05 مولار و EDTA 1 میلی‌مولار مخلوط شده و پس از ورتکس، مجدداً به مدت 10 دقیقه با نیروی 1000xg سانتریفوژ گردید و مایع رویی دور ریخته شد. در مرحله بعدی استخراج توسط 25 میلی‌لیتر محلول KCl 0/15 مولار انجام شد. به قسمت جامد باقیمانده که در واقع پروتئین‌های میوفیبریلی جدا شده بود، 10 میلی‌لیتر بافر MFI اضافه شد و تا زمان الکتروفورز در دمای یخچال نگهداری گردید. مقدار پروتئین هر نمونه پروتئین‌های میوفیبریلی بر اساس روش بیورت با پروتئین استاندارد سرم آلبومین گاوی اندازه‌گیری گردید. برای تفکیک اجزای مختلف پروتئینی نمونه‌ها از الکتروفورز ژل پلی‌آکریل‌آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات استفاده گردید. ابعاد ژل مورد استفاده 8 ×10 سانتی‌متر مربع بوده و همچنین دستگاه مورد استفاده در این آزمون، الکتروفورز عمودی (Mini-PROTEAN Tetra Cell، Bio-Rad، امریکا) استفاده شد. لازم به ذکر است که برای بافر ژل متراکم‌کننده[3] و بافر ژل جداکننده[4] به‌ترتیب از محلول تریس- اسید

1 4-dimethyaminobenzaldehyde

2 Pyrole

3 Stacking Buffer

4 Resolving Buffer

کلریدریک 0/5 مولار (pH معادل6/8) و تریس- اسید کلریدریک 1/5 مولار (pH معادل 8/8) استفاده شد و غلظت آکریل آمید نیز برای آن‌ها به‌ترتیب 4 درصد و 12/5 درصد بود. برای این منظور، 50 میکرولیتر محلول ایزوله پروتئینی با غلظت مشخص و 150 میکرولیتر محلول بافر نمونه[1] حاوی مرکاپتواتانول به اپندورف منتقل شده و به خوبی ورتکس گردید. سپس اپندورف‌ها به مدت 20 دقیقه در دمای محیط و 5 دقیقه در بن ماری 90 درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت این زمان و رسیدن دمای نمونه‌ها به دمای محیط 40 میکرولیتر از هر نمونه آماده شده به داخل هر چاهک ژل تزریق شد و دستگاه الکتروفورز به جریان برق با ولتاژ 120 ولت به مدت حدود 1/5 تا 2 ساعت متصل گردید. پس از پایان الکتروفورز، ژل‌های تشکیل شده به مدت 24 ساعت درون محلول کلوئیدی آبی درخشان کوماسی G_{250} قرار گرفتند تا رنگ‌آمیزی باندهای پروتئینی انجام شود. سپس رنگ‌بری ژل‌ها توسط اسید استیک 1 درصد به مدت 48 ساعت روی شیکر انجام شد (تعویض محلول رنگبری بعد از 24 ساعت اول). سپس تهیه تصویر ژل‌ها با استفاده از اسکنر (CanoScan 8400F، ژاپن) با رزولوشن‌های 600dpi انجام شد. سپس با کمک نرم‌افزار TotalLab TL120 (ویرایش 2009، Nonlinear Dynamics Ltd، انگلیس) مساحت باند حاصل از ژل‌ها تعیین گردید. تحلیل اختلاف‌های موجود در داده‌های حاصل از نرم‌افزار TotalLab با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 19 صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها به‌وسیله آزمون دانکن و در سطح احتمال 5% انجام شد(زاهدی و همکاران، 1393).

آزمون حسی

برای انجام آزمون حسی، ویژگی‌هایی همچون رنگ، عطر، طعم، تردی، آبدار بودن و پذیرش کلی توسط 10 داور آموزش دیده (زن و مرد) در مقیاس هدونیک پنج نقطه‌ای[2] مورد ارزیابی قرار گرفتند. تعریف هر یک از پارامترهای حسی برای داوران بر اساس توضیح هافمن و همکاران (2006 و 2008) صورت گرفت. بدین منظور، 500 گرم گوشت با ضخامت 2/5 سانتی‌متر از نمونه‌ها در زمان 48 جدا شد. سپس نمونه‌ها درون فویل آلومینیمی قرار داده شده و به آون با دمای 120 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. پس از رسیدن دمای درونی نمونه‌ها به 72 درجه سانتی‌گراد، گوشت‌های پخته شده به موازات فیبرهای عضله و به ابعاد 1/5 سانتی‌متر برش داده شدند و پس از بسته بندی درون فویل، کدگذاری گردیدند (AMSA، 1995) و در اختیار ارزیاب‌های حسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی در این پژوهش درصد محلول‌های ماریناد (صفر، 0/5، 1 و 1/5 درصد) و مدت زمان غوطه‌وری درمحلول های ماریناد (صفر، 24، 48،72 ساعت) بود. آنالیز واریانس نتایج به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه 19، 2010)، صورت گرفت و مقایسه میانگین‌های اثرهای اصلی به‌وسیله آزمون دانکن با استفاده از نرم‌افزارSPSS درسطح اطمینان 95 درصد (p<0/05) انجام شد.

نتایج و بحث

میانگین مقادیر رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر در عضله دو سر ران شترهای مورد بررسی به‌ترتیب برابر 75/67±1/48، 20/87±1/43، 2/38±0/98، 1/05±0/07درصد حاصل گردید.

طول سارکومر

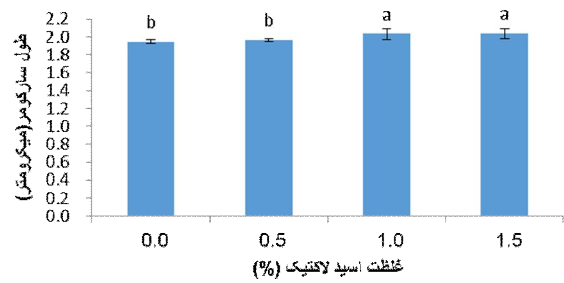
شدت انقباض عضلات پس از کشتار توسط طول سارکومر بیان می‌شود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس افزایش غلظت اسید لاکتیک سبب افزایش طول سارکومر به‌طور معنی‌دار گردید (p<0/05)، به‌طوری‌که نمونه‌ها در غلظت صفر اسید دارای کمترین طول سارکومر بوده و اختلاف آماری معنی‌داری با سایر نمونه‌ها داشتند (شکل 1). این احتمال می‌رود که افزودن اسید منجر به افزایش بارهای مثبت خالص روی پروتئین‌های میوفیبریلی و سیتواسکلتی شده و سپس در نتیجه این امر نیروهای دافعه بیشتر بین مولکول‌های پروتئین در میوفیبریل‌ها ایجاد می‌شود. در نهایت تورم ایجاد شده در میوفیبریل‌ها باعث فاصله گرفتن خطوط Z از یکدیگر و افزایش طول سارکومر می‌گردد (سبزی و همکاران، 1394; ke *et al.*, 2008). به‌طور مشابهی سبزی و همکاران (1394) بیان کردند که افزایش غلظت آبغوره سبب افزایش طول سارکومر عضله دو سر ران گاو به‌صورت معنی‌دار گردید. Ke و همکاران نیز (2009) گزارش کردند که با کاهش pH عضله به کمتر از 3/52، طول سارکومر عضله نیم و تری گاو افزایش یافت که میزان این افزایش در نمونه‌های قرار داده شده در اسید سیتریک بیشتر از نمونه‌های تیمار شده با اسید سیتریک و تری پلی‌فسفات سدیم گزارش شد

بر اساس نتایج آنالیز واریانس، مشابه اثر غلظت، زمان نگهداری در اسید مورد مطالعه تأثیر معنی‌داری بر طول سارکومر داشت (p<0/05). به طوری که نمونه‌ها در زمان صفر و زمان 72 به‌ترتیب کمترین و بیشترین طول سارکومر را به‌خود اختصاص دادند (شکل 2).افزایش طول سارکومر با گذشت زمان در سایر تحقیقات نیز مشاهده شده است. سبزی و همکاران (1394) افزایش طول سارکومر

---

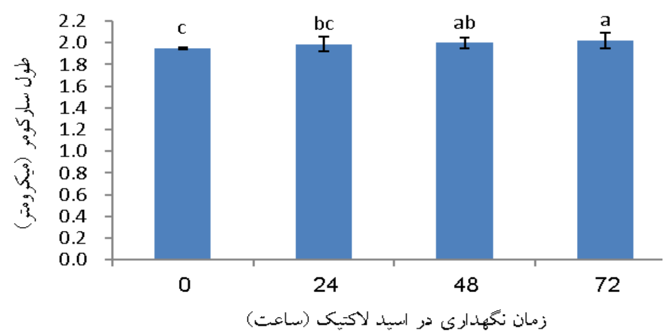
1 Sample Buffer
2 Five-points hedonic scale

در طی زمان نگهداری در آبغوره را بر روی عضله دوسر ران گاو گزارش کردند. Rao و همکاران (1989) نشان دادند که تیمار 0/01 مولار اسید استیک باعث افزایش طول سارکومر در عضلات سینه‌ای عمقی، پشتی بزرگ، دندانه‌دار پایینی گوشت گاو گردید



شکل 1- میانگین طول سارکومر در عضله دو سر ران با غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک.

نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند (p<0.05).



شکل 2- میانگین طول سارکومر درعضله دو سر ران در طی مدت نگهداری در اسید لاکتیک.

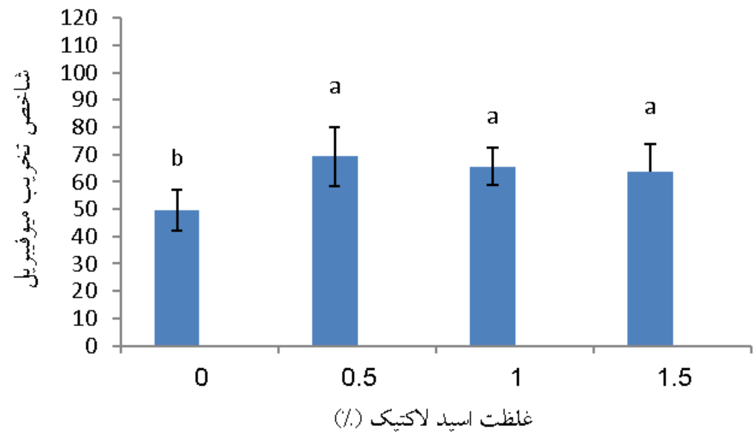
نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند (p<0.05).

شاخص تخریب میوفیبریل (MFI)

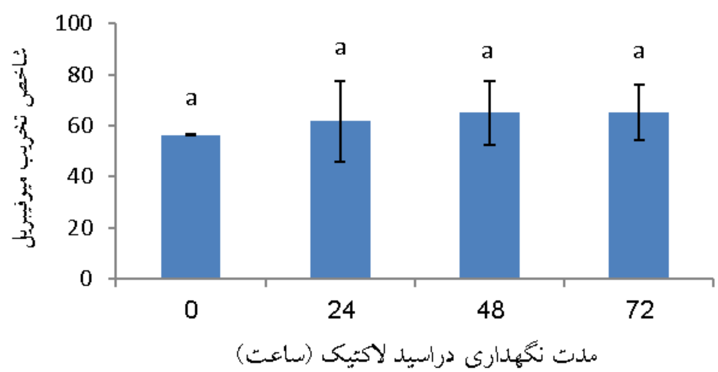
یکی از پارامترهای مهم در کنترل و پیگیری میزان تردی گوشت، اندازه‌گیری شاخص تخریب میوفیبریل[1] می‌باشد. MFI مقیاسی از میانگین طول میوفیبریل‌ها بوده و با تردی ارتباط معنی‌داری دارد؛ هر چه طول میوفیبریل‌ها کوتاهتر باشد، تعداد تکه‌های میوفیبریلی موجود درسارکوپلاسم سلول‌های عضلانی بیشتر بوده و در نتیجه گوشت تردتر خواهد بود (Taylor *et al.*, 1995؛ Olson *et al.*,1976). همچنین این شاخص می‌تواند تا حدود 50 درصد اختلاف تردی بین گوشت را توجیه نماید (زاهدی و همکاران، 1393؛ Culler *et al.*, 1978). نتایج آنالیز واریانس نشان داد غلظت اسید لاکتیک تاثیر معنی‌داری بر MFI داشت (p<0/05)، به‌طوری که میزان این پارامتر در غلظت صفر کمتر از سایر نمونه‌ها بود (شکل 3). احتمالا علت اصلی بالاتر بودن MFI در نمونه‌های ماریناد شده در اسیدها، تجزیه پروتئین‌های میوفیبریلی دراثرفعالیت کاتپسین‌هایD (زنجیره سنگین میوزین، اکتین، تروپومیوزین و تروپونین T و I) بوده که در pH اسیدی (محدوده 6-3) فعالیت می‌کنند. همچنین طبق پژوهشKim و همکاران (2012) با فزایش غلظت سس سویا میانگین MFI عضله دو سر ران گاو به‌طورمعنی‌داری افزایش پیدا کرد به‌طوری‌که در غلظت 100 درصد بالاترین مقدار MFI عضله مشاهده شد.

با افزایش مدت زمان نگهداری در اسید لاکتیک MFI افزایش یافت (شکل 4) که این افزایش بی‌معنی بود (p>0/05). زیرا قطعات گوشت به مدت طولانی‌تری در pH پایین قرار گرفتند و قاعدتاً بیشتر تجزیه می‌شود. در نتیجه MFI در مقایسه با نمونه با زمان صفر افزایش یافت. MFI پایین‌تر نشان‌دهنده فعالیت پروتئولیتیکی کمتر می‌باشد (زاهدی و همکاران،1393؛ سبزی و همکاران، 1394).

1 Myofibrillar Fragmentation Index (MFI)



شکل 3- میانگین شاخص تخریب میوفیبریل در عضله دو سر ران با غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک.
نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p<0.05$).



شکل 4- میانگین شاخص تخریب میوفیبریل در عضله دو سر ران در طی مدت نگهداری در اسید لاکتیک.
نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p<0.05$)

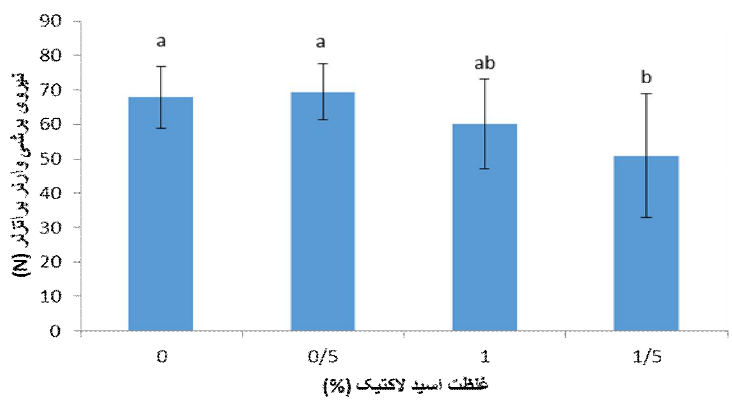
بافت

بافت گوشت به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای ارگانولپتیکی، بیشترین اهمیت را از نظر مصرف‌کنندگان به‌خود اختصاص داده است (Yusop *et al*., 2010). چربی داخل عضلانی، ساختار بافت پیوندی، اندازه فیبرهای عضله، pH و ظرفیت نگهداری آب از جمله عوامل اثرگذار روی مقدار نیروی برشی مورد نیاز عضله هستند (اصغر و پیرسون، 1980). گوشت‌ها ازنقطه نظر تردی بر پایه نیروی برشی وارنر-براتزلر (WBSF[1]) بر اساس تحقیقات بولمن و همکاران (1997) به این ترتیب تقسیم‌بندی شدند: گوشت ترد 35/084-22/464نیوتن؛ گوشت با تردی متوسط 52/92-39/984 نیوتن؛ و گوشت سفت 70/658–57/82 نیوتن.

نتایج آنالیز واریانس اسید لاکتیک نشان داد که WBSF گوشت‌های قرار داده شده در بالاترین غلظت اسید (1/5درصد) دارای

1 Warner bratzler shear force

کمترین مقدار بود (شکل 5) و اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه‌ها در غلظت صفر و 0/5 درصد داشت (p<0/05). مکانیسم عمل تردشدن گوشت توسط مارینادهای اسیدی را می‌توان به عوامل مختلفی از قبیل تضعیف ساختمان به دلیل تورم گوشت، تشدید پروتئولیز توسط کاتپسین‌ها و افزایش تبدیل کلاژن به ژلاتین در pH پایین در حین پخت نسبت داد (Berge *et al*., 2001؛ Offer & Knight ,1988). مشابه یافته‌های این پژوهش، سبزی و همکاران (1394) نیز گزارش کردند که افزایش غلظت آبغوره سبب کاهش WBSF گوشت گاو گردید در حالی‌که بین نمونه‌های شاهد و نمونه‌های قرار داده شده در کمترین درصد محلول آبغوره (30 درصد) اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. اثر اسید نه تنها به سفتی اولیه گوشت بلکه به غلظت اسید استفاده شده نیز بستگی دارد (Berge *et al*., 2001). در این مطالعه با افزایش غلظت اسیدها از 0/5 به 1/5 درصد ظرفیت نگهداری آب بالا رفته و میزان سفتی کاهش یافت، هرچند که کاهش سفتی در غلظت 0/5 درصد در مقایسه با نمونه شاهد معنی‌دار نبود. در توجیه این پدیده می‌توان بیان کرد که غلظت اسید با تأثیر بر ظرفیت نگهداری آب می‌تواند یکی از دلایل تردی گوشت باشد زیرا افزایش مقدار بارهای مثبت خالص منجر به ایجاد دافعه بین گروه‌های پروتئینی با بارهای مشابه، تورم فیبرهای عضله و ایجاد فضا برای آب افزوده شده می‌شود (Hamm *et al*.,1975) همسو با نتایج این تحقیق، Gault نیز (1985)گزارش کرد که ظرفیت نگهداری آب با سفتی گوشت پخته گاو نسبت عکس دارد. به‌طور مشابه Ertbjerg و همکاران (1995) بیان کردند که اسید لاکتیک 0/3 مولار منجر به کاهش pH به 5/2 گردید که نزدیک نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌های میوفیبریلی بوده و بنابراین سبب بهبود بافت نگردید، در حالی که تزریق 1 مولار اسید منجر به تنزل pH تا 4/6 گردید و سفتی گوشت کاهش یافت.



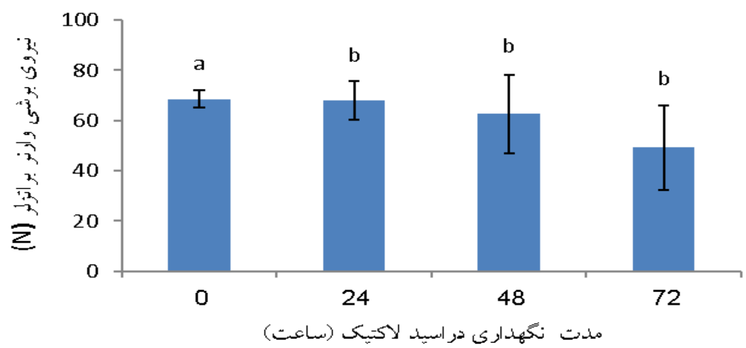
شکل 5- میانگین نیروی برشی در عضله دو سر ران با غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک

نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند (p<0.05).

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که WBSF گوشت‌های قرار داده شده تحت تأثیر زمان نگهداری در اسید لاکتیک کاهش معنی‌دار یافت (p<0/05). به‌طوری که بین نمونه در زمان صفر و نمونه تیمارشده در زمان‌های دیگر اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد (شکل 6). این احتمال وجود دارد که افزایش ترکیبات نیتروژنی غیرپروتئینی در طی نگهداری سبب تردی نمونه‌های ماریناد شده باشد. علاوه بر اینها، از آنجا که pH بهینه برای فعالیت کاتپسین‌ها در دامنه 5-3/5 قرار دارد، بنابراین کاهش pH در طی ماریناد کردن سبب افزایش فعالیت پروتئولیتیکی این آنزیم‌ها و تردتر شدن نمونه‌های ماریناد شده در زمان‌های 24، 48 و 72 ساعت در مقایسه با نمونه در زمان صفر گردید (Istrati *et al* ,2012). در گزارشی دیگر اختلاف بسیار کمی در نیروی برشی بین نمونه‌های تیمار شده با اسید لاکتیک 0/5 مولار در روز دوم و چهاردهم توسط Berge و همکاران (2001) مشاهده گردید. گزارش شده است که طول سارکومر در گوشت گاو با نیروی برشی وارنر- براتزلر رابطه عکس دارد (زاهدی و همکاران، 1393) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. همچنین میزان نیروی برشی وارنر- براتزلر با MFI رابطه معکوس داشت به‌طوری که نمونه در زمان و غلظت صفر بیشترین نیروی برشی و کمترین MFI رادر مقایسه با نمونه‌های تیمار شده به‌خود اختصاص دادند.

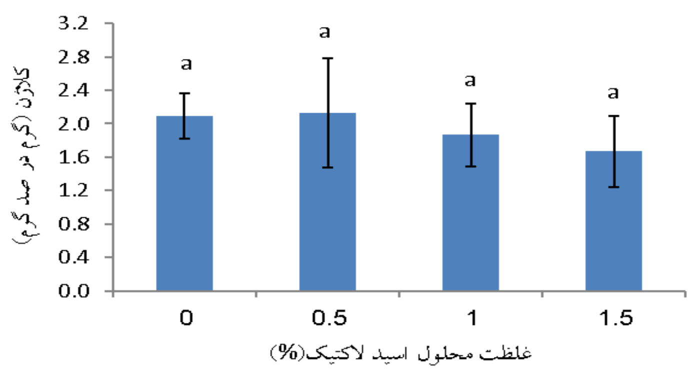
کلاژن

پروتئین‌های بافت پیوندی کم‌محلول‌ترین گروه پروتئین‌ها در سلول‌های عضلانی است. دو پروتئین کلاژن و الاستین بخش عمده پروتئین استروما را تشکیل می‌دهند و به‌طور کلی این پروتئین‌ها می‌توانند تردی گوشت را کاهش دهند. (سلطانی‌زاده و کدیور،1390). Berge و همکاران (2001) بیان کردند که مکانیسم تردسازی گوشت به‌وسیله اسید لاکتیک ترکیبی از اثر تضعیف پروتئین‌های میوفیبریلی و تا حد کمتری بافت پیوندی بود، لذا ماریناد کردن به‌خصوص در ارتباط با عضلات غنی از کلاژن که اغلب قطعات گوشت کم ارزش را ایجاد می‌کند، اهمیت بسیاری جهت بهبود کیفیت گوشت دارد (Gault, 1991). با افزایش سن، میزان اتصالات بین مولکولی پایدار به حرارت در کلاژن بالا رفته (Cross *et al*., 1973) و می‌تواند دلیلی برای محدود کردن اثر ماریناد بر میزان کلاژن باشد. بر اساس نتایج آنالیز واریانس مطابق با شکل 7 غلظت اسید اثر معنی‌داری بر کلاژن نداشت ($p>0/05$). این احتمال می‌رود غلظت پایین اسید با اینکه روی برخی از پارامترها تأثیر گذاشته است ولی برای تجزیه بافت پیوندی مناسب نیست (Hinkle *et al*., 2010).



شکل 6- میانگین نیروی برشی در عضله دو سر ران در طی مدت نگهداری در اسید لاکتیک.

نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

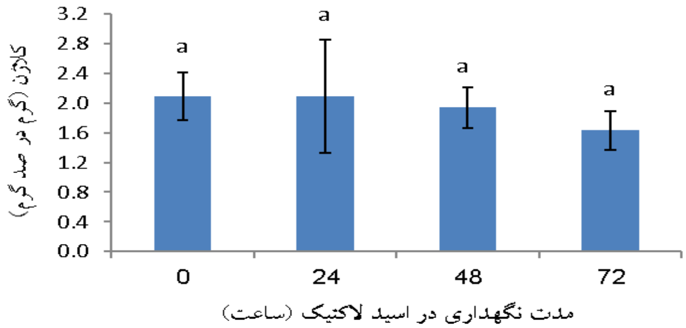


شکل 7- میانگین کلاژن در عضله دو سر ران با غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک.

نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

همچنین مدت نگهداری در اسید (شکل 8) روی مقدار کلاژن نمونه‌های تیمار شده با اسید لاکتیک اثر معنی‌داری نداشت ($p>0/05$)، اما با افزایش مدت زمان نگهداری میزان کلاژن کاهش یافت. از طرفی Klinhom و همکاران (2011) در تحقیقی دیگر کاهش مقدار کلاژن در نمونه‌های ماریناد شده گوشت گاو با محلول 0/05 مولار اسید سیتریک، 15درصد آب‌لیمو، 15 درصد آب پورکوپین

در طی 24 ساعت بیان کردند. همچنین گزارش شده است مقدار کلاژن گوشت‌های گاو غوطه‌ور شده در اسید استیک و اسید فسفریک در مقایسه با نمونه شاهد به‌ترتیب 80 درصد و 40 درصد کاهش یافتند (Oreskovich *et al*., 1992).



شکل 8- میانگین کلاژن در عضله دو سر ران در طی نگهداری در اسید لاکتیک.
نتایج با حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار هستند ($p<0.05$).

الکتروفورز یک بعدی

تصاویر ژل‌های SDS-PAGE عضله دو سر ران شتر نگهداری شده به مدت 72 ساعت در محلول اسیدلاکتیک با درصدهای مختلف در شکل‌های الف، ب، ج.آمده است. طی این زمان، به طور متوسط 7 باند روی ژل‌ها مربوط به پروتئین‌های مشخصی بوده وسایر باندهای تشکیل شده در نتیجه پروتئولیز پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئین‌های با وزن مولکولی زیاد تولید شده‌اند و به‌عنوان پپتید در نظر گرفته شدند. مساحت باندهای شناسایی شده (بعنوان شاخصی از پروتئولیز پروتئینها) در جدول 1 ارائه شده است. تغییرات پروتئولیزی باندهای تشکیل شده در ژل‌های SDS-PAGE را می‌توان به صورت زیر بیان کرد

1) باند کیلودالتون (زنجیره سنگین میوزین، MHC)

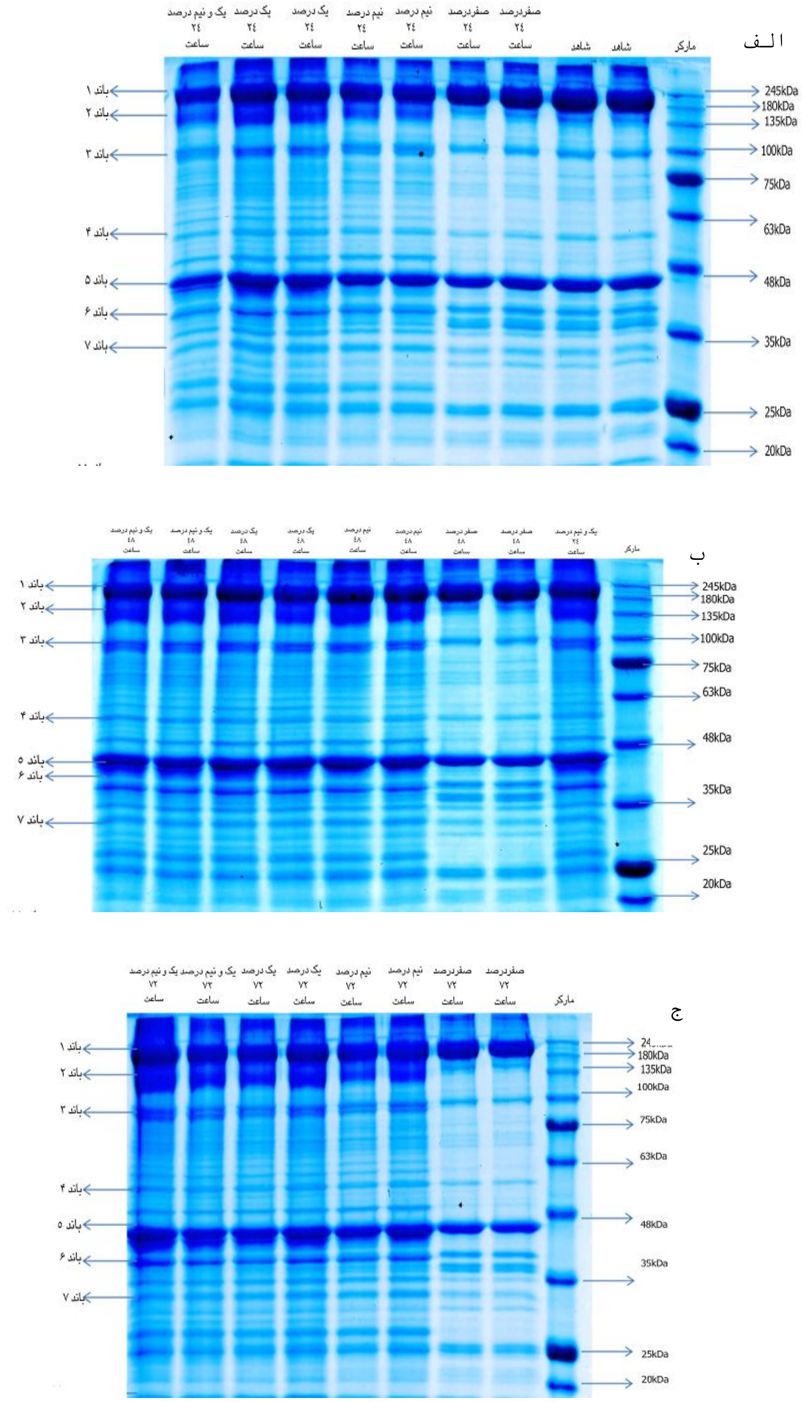
میوزین فراوان‌ترین پروتئین عضله بوده و 38 درصد کل پروتئین‌های عضله و 43 درصد پروتئین‌های میوفیبریلی را به خود اختصاص می‌دهد (استراسبرگ و همکاران، 2008). نتایج آنالیز واریانس اسید لاکتیک نشان داد که مدت زمان نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد اثر معنی‌داری بر مساحت باند پروتئینی MHC نداشت (p>0/05)، زیرا پروتئین مذکور به‌صورت خیلی جزئی پروتئولیز شده بود. همچنین محققان دیگر بیان کرده‌اند پروتئولیز میوزین نقشی در افزایش تردی گوشت گاو طی مرحله جمود نعشی و رسیدن نداشت زیرا مساحت باند مربوط به MHC تغییری نکرد (Bandman, & Zdanis ,1988). به طور مشابهی Taylor و همکاران (1995) بیان کردند که طی نگهداری گوشت در 72 ساعت پس از کشتار تجزیه‌ی پروتئین‌های اکتین و میوزین به‌صورت خیلی جزئی صورت گرفت. این امر می‌تواند به دلیل عدم شرکت کاتپسین‌ها در طی دوره رسیدن گوشت باشد. همچنین Sawdy و همکاران (2004) بیان کردند که مقدار پروتئولیز MHC در مدت 36 ساعت پس از کشتار در گوشت‌های تردتر بیشتر از انواع دارای تردی کم بود و پروتئولیز فیلامنت‌های ضخیم به‌طور معنی‌داری با تردی گوشت گاو مرتبط بود. لذا نتایج حاصل مبنی بر کاهش نیروی برشی با افزایش غلظت لاکتیک با نتایج کاهش مساحت MHC مطابقت داشت.

افزایش غلظت اسید لاکتیک باعث پروتئولیز MHC و کاهش معنی‌دار مساحت باند نمونه‌های ماریناد شده با غلظت‌های 1، 0/5 و 1/5 در مقایسه با غلظت صفر گردید (p<0/05)، زیرا تجزیه میوزین عمدتاً وابسته به دما و pH است (Taylor *et al*., 1995؛ Goll *et al*., 1983؛ Bandman, & Zdanis ,1988). به‌طوری که میوزین در دماهای بالا و pH پایین تجزیه می‌شود؛ ولی در تجزیه میوزین pH بیشتر از دما تاثیرگذار است (Yates *et al*.,1983). به این ترتیب با افزایش غلظت اسید مورد بررسی و کاهش pH، میوزین توسط آنزیم‌های کاتپسین در شرایط اسیدی تجزیه می‌شود. از آنجا که کاتپسین‌ها درون لیزوزوم قرار داشته و عمدتاً در pH اسیدی (pH بهینه فعالیت 6/8-3)، نظیر محیط داخلی لیزوزوم، فعال هستند، به این ترتیب کاتپسین‌ها وارد سیتوپلاسم شده و در مجاورت میوفیبریل‌ها قرار می‌گیرند. سبزی و همکاران (1394) نیز به این نتیجه رسیدند که افزایش غلظت محلول آبغوره سبب پروتئولیز MHCو کاهش معنی‌دار مساحت باند مربوط به آن گردید.

:

جدول ۱- مساحت باندهای تشکیل شده روی ژل SDS-PAGE حاصل از پروتئولیز پروتئین‌های میوفیبریلی عضلات دوسر ران شتر در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف در اسید لاکتیک

پروتئین	غلظت درصد				زمان نگهداری			
	۰	۰/۵	۱	۱/۵	۰	۲٤	٤۸	۷۲
زنجیره سنگین میوزین	۷۳۴۲/۰۵±۱۳۳/۱۷a	۷۰۹۷/۵۰±۱۳۷/۵۰^{a}	۷۰۲۲/۱۳±۹۰/۰۵^{a}	۷۰۳۷/۵۰±۱۵۰/۷۹^{a}	۷۱۰۰±۱۰۶/۹۰^{a}	۷۱۷۱/۵۰±۱۴۴/۳۶^{a}	۷۰۶۶/۵۰±۱۷۲/۴۳^{a}	۷۰۶۲/۳۸±۱۸۴/۸۰^{a}
پروتئین C	۳۷۲۸/۷۵±۲۶۸/۱۳^{b}	۳۹۴۹/۶۳±۲۵۳/۱۹^{a}	۵۰/۳۹±۳۳۴/۸۷^{a}	۴۰۳۴/۳۸±۳۷۱/۷۶^{a}	۳۴۷۵±۲۴۰/۳۵^{b}	۳۹۸۱/۸۸±۲۵۴/۰۸^{a}	۴۱۳۹/۶۳±۱۹۶/۳۷^{a}	۴۰۶۶/۶۳±۶۱۹/۳۷^{a}
α – اکتینین	۴۱۹۲/۰۵±۱۳۶/۰۱۱^{b}	۴۳۶۷/۷۵±۲۴۶/۷۸^{ab}	۴۴۰۶/۲۵±۲۵/۲۰^{b}	۴۵۱۸/۱۳±۳۰۵/۶۱^{b}	۴۱۷۲/۵۰±۱۳۶/۳۰^{a}	۴۳۲۲/۱۳±۳۰۲/۵۴^{ab}	۱۳۴۴۳۳±۱۶۷/۰۷^{bc}	۴۵۵۵/۶۳±۰۲۲/۱۰^{c}
دسمین	۵۲۷۳/۳۶±۱۸۰/۸۳^{a}	۵۲۴۶/۲۵۱±۱۹۱/۴۸^{a}	۵۲۴۱/۸۸±۲۰۹/۶۲^{a}	۵۲۵۶/۳۸±۱۹۱/۱۴^{a}	۵۲۲۵/۸۳±۲۴۰/۵۳^{a}	۵۲۲۰/۶۳±۱۹۸/۴۸^{a}	۵۲۵۶/۶۳±۱۵۴/۸۴^{a}	۵۲۵۴/۵۳±۱۸۵/۶۳^{a}
اکتین	۸۲۶۴/۸۳±۲۴۳/۳۷^{b}	۸۲۷۰/۲۵±۲۳۳/۲۶^{a}	۸۴۶۶/۲۵±۲۲۶/۸۴^{a}	۸۴۹۵±۲۵۰/۵۱^{a}	۸۰۰۰±۱۳۲/۸۰^{b}	۸۴۵۲±۲۰۱/۹۴^{a}	۶۰/۸۵±۱۳۶/۵۴^{a}	۸۲۸۴/۵۰±۲۶۶/۰۶^{a}
تروپومیوزین	۴۷۳۹/۵۲±۱۶/۸۴^{a}	۴۷۰۸/۲۵±۱۴۴/۱۳^{a}	۴۶۴۸/۲۵±۱۹۴/۷۴^{a}	۴۶۳۶/۷۵±۱۳۵/۰۷^{a}	۴۵۸۷/۰۵±۱۸۰/۷۷^{a}	۴۶۸۴/۸۸±۹۴/۹۸^{a}	۴۷۴۰/۶۳±۱۵۹/۳۸^{a}	۴۷۲۶/۵۰±۱۶۶/۳۰^{a}
پپتید ۳۰ کیلودالتونی	۵۳۴۹/۸۸±۱۸۵/۹۵^{a}	۵۳۲۴/۸۸±۲۰۹/۲۵^{a}	۵۳۱۶/۲۵±۱۸۷/۰۸^{a}	۵۳۲۶/۸۸±۲۱۰/۰۲^{a}	۵۳۰۰/۸۸±۲۱۳/۸۰^{a}	۵۲۹۱/۸۸±۲۴۷/۸۳^{a}	۵۳۴۳/۸۸±۱۴۰/۷۹^{a}	۵۳۸۳/۱۳±۱۵۸/۳۰^{a}



شکل 8- تغییرات الگوی الکتروفورزی (SDS-PAGE %12/5) پروتئین‌های میوفیبریلی گوشت شتر در مدت زمان‌های صفر، 24، 48، 72 ساعت نگهداری در اسید لاکتیک (شکل‌های الف، ب، ج)

2) باند 145-140 کیلودالتون (پروتئین C یا پپتیدهای حاصل از تجزیه MHC)

دومین باند می‌تواند مربوط به پروتئین C و به احتمال دیگر پپتیدهای حاصل از تجزیه MHC باشد. پروتئین C جزئی از فیلامنت ضخیم بوده و به قسمت دم میوزین متصل شده و روی پیکربندی میوزین تأثیر می‌گذارد (زاهدی و همکاران، 1393). این باند حتی در نمونه شاهد نیز وجود داشت که با نتایج سبزی و همکاران (1394) نیز مبنی بر ظاهر شدن این باند در نمونه شاهد مطابقت داشت. همچنین Claeys و همکاران (1995) دومین باند ظاهر شده روی ژل SDS-PAGE را متعلق به پروتئین C دانستند که در نمونه‌های تهیه شده از لحظه کشتار تا روز 12 روی ژل ظاهر شده و در روزهای 6 و 12 از شدت آن کاسته شد. بر اساس نتایج آنالیز واریانس اسید لاکتیک اثر زمان نگهداری بر مساحت باند 145-140 کیلودالتونی معنی‌دار شد به‌طوری‌که نمونه در زمان صفر دارای اختلاف آماری معنی‌داری با سایر نمونه‌ها در زمان‌های مختلف بود و شاهد افزایش مساحت بودیم. این مسئله می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت کاتپسین‌ها و افزایش تجزیه MHC باشد. سبزی و همکاران(1394) نیز افزایش مساحت این باند را با در نظر گرفتن مدت زمان نگهداری گوشت گاو در آبغوره گزارش کردند.

اثر غلظت اسید لاکتیک نیز بر مساحت این باند معنی‌دار بوده و با افزایش غلظت مساحت باند مربوطه افزایش یافت ($p<0/05$)، این امر می‌تواند همانند زمان نگهداری در محلول اسیدی به دلیل افزایش فعالیت کاتپسین‌ها در نتیجه مناسب شدن pH و تشکیل پپتیدهای حاصل از تجزیه جزئی MHC طی نگهداری گوشت باشد که باعث افزایش مساحت باندهای این ناحیه گردید. سبزی و همکاران (1394) نیز افزایش مساحت این باند را در ارتباط با گوشت گاو و در نتیجه افزایش غلظت آبغوره بیان کردند.

3) باند سوم باند 98 کیلو دالتون (α-اکتینین)

این پروتئین یکی از مهمترین اجزای سازنده دیسک Z و جزء خانواده دایستروفین[1]است. 2/5-2 درصد پروتئین‌های میوفیبریلی مربوط به این پروتئین است. فیلامنت‌های اکتین و تیتین دو سارکومر مجاور از طریق این پروتئین به دیسک Z متصل می‌شوند (Knöll *et al*.,2002). نتایج حاصل از آنالیز واریانس اسید لاکتیک نشان داد که میانگین مساحت باند α- اکتینین در سایر زمان‌ها در مقایسه با زمان صفر به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0/05$). شروع تجزیه α-اکتینین از 7 تا 10 روز پس از کشتار و توسط کاتپسین‌های B، D و L می‌باشد ولی شدت تجزیه ضعیف بوده به‌طوریکه α- اکتینین بعد از 13 روز نگهداری گوشت دچار تغییر محسوسی نشد (Hwan & Bandman,1989؛ Taylor *et al*., 1995). Berge و همکاران (2001) مشاهده کردند که تراکم باند 95 کیلو دالتونی در نمونه‌های تیمارشده با اسید لاکتیک پس از دو روز از کشتار افزایش یافت در حالی که این اثر در روز چهارهم مشخص نبود.

با افزایش غلظت اسید لاکتیک مساحت باند مذکور به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<0/05$)، با توجه به pH پایین اسید و مناسب شدن شرایط برای فعالیت آنزیم‌های کاتپسین انتظار می‌رفت مقدار پروتئین α- اکتینین کاهش یابد (Ferguson-and Pryce,1979)، اما نتیجه مذکور حاصل نشد. سبزی و همکاران (1394) نیز بیان کردند میانگین مساحت یاند **α-** اکتینین گوشت گاو تحت اثر آبغوره به مقدار جزئی اقزایش یافت که با نتایج حاصل مطابقت داشت. در گزارشی دیگر Yates و همکاران (1983) گزارش کردند که در فراکسیون میوفیبریلی تیمار شده در pH معادل5/4 و یا دمای 37 درجه سانتی‌گراد در مقایسه با pH معادل7 یا دمای 4 درجه سانتی‌گراد شدت باند متعلق به α- اکتینین به‌طور معنی‌داری بیشتر بود و دلیلی برای این تغییرات ذکر نکردند.

محققان دیگری نیز بیان کردند که طی پروتئولیز گوشت، پپتیدهایی با وزن مولکولی 95 کیلودالتون به وجود می‌آیند که احتمالاً ناشی از تجزیه میوزین هستند (Sentandreu ؛ Koohmaraie, 1994 *et al*., 2002). بنابراین شاید با تأثیر اسید بر MHC، علاوه بر تولید پپتیدهایی با وزن مولکولی 145-140 کیلو دالتون می‌تواند پپتیدهایی با وزن مولکولی حدود 95 کیلودالتون نیز ایجاد شده که در محدوده وزن مولکولی پروتئین‌های α- اکتینین قراردارند و بر مساحت این باند اضافه می‌گردد.

4) باند 56 کیلو دالتون (دسمین)

باند پنجم باند 56 کیلو دالتون (دسمین) جزء پروتئین‌های کوستامر[2]می‌باشد و با وزن مولکولی 55 کیلو دالتون کمتر از یک درصد پروتئین‌های میوفیبریلی را به‌خود اختصاص می‌دهد. تجزیه دسمین منجر به از دست‌رفتن یکپارچگی دیسک Z شده یا اتصالات بین دیسک Z و باند I را از بین می‌برد (Goll *et al*., 1983). در نتیجه، تخریب دسمین به‌طور قابل ملاحظه‌ای با تردی ارتباط دارد (Huff-Lonergan *et al*.,2010 ؛Koohmaraie, 1994,1996).

آنالیز واریانس اسید لاکتیک نشان داد که مدت زمان نگهداری و غلظت اسید اثر معنی‌داری بر مساحت باند نداشتند ($p>0/05$)، در حالی‌که سبزی و همکاران (1394) نیز بیان کردند که مساحت باند دسمین نمونه های بدون آبغوره پس از 72 ساعت کاهش یافت. ازطرفی بنابر گزارش Wheeler و همکاران (2000) مقدار تجزیه آن به ترتیب بیشترین به کمترین به صورت: عضلات طویل، نیم غشایی،

---

1 Dystrophin

2Costamere

دوسر ران، سه سر بازو و نیم وتری گزارش شده است. احتمالاً علت تغییر جزئی در تجزیه پروتئین دسمین عضله دوسر ران درمقایسه با پژوهش‌های دیگر مقدار فعالیت پایین‌تر کالپاین های μ و m عضله دوسران در مقایسه با سایر عضلات است. Taylor و همکاران (1995) بیان نمودند تخریب دسمین با فاصله کوتاهی بعد از کشتار شروع شده و به مدت 4 تا 6 روز ادامه می‌یابد و به‌طور پیوسته باعث افزایش تردی می‌شود.

5) باند 44 کیلودالتونی (اکتین)

باند بنجم باند 44 کیلو دالتونی می‌باشد که از لحاظ فراوانی دومین پروتئین است و 22درصد پروتئین‌های میوفیبریلی را تشکیل می‌دهد. مشابه اکثر پروتئین‌ها، پروتئولیز این پروتئین نیز به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر زمان نگهداری قرار گرفت و نتایج آنالیز واریانس اسید لاکتیک نشان داد که زمان صفر اختلاف آماری معنی‌داری با سایر زمان‌ها داشت و کمترین میزان را به خود اختصاص داد (*p*<0/05). غلظت اسید لاکتیک نیز مشابه زمان نگهداری اثر معنی‌داری داشت به طوری که غلظت صفر و نیم درصد اسید لاکتیک نیز اختلاف معنی‌داری با سایر غلظت‌ها داشت و با افزایش غلظت مساحت باند افزایش یافت (*p*<0/05). در این پژوهش روند افزایشی برای پروتئین‌های این محدوده احتمالاً به دلیل پروتئولیز پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر (MHC) به پپتیدهای با وزن مولکولی مشابه اکتین و قرار گرفتن آنها بر روی اکتین‌های موجود در این منطقه بود که با نتایج سبزی و همکاران (1394) مطابقت داشت. Kim و همکاران (2013) بیان کردند که اثرات سس سویا به دلیل مقدار قابل توجه پروتئینهای میوفیبریلی (اکتین و میوزین) کاهش می‌یابد، اما به هر حال شرایط ایجاد شده به‌وسیله pH پایین تحت اثر سس‌سویا می‌تواند دلیل عمده تجزیه پروتئولیتیک پروتئین‌های میوفیبریلی باشد. Berge و همکاران (2001) نیز بیان کردند که تجزیه اکتین در نمونه‌های ماریناد شده با اسید لاکتیک کم بوده و در نتیجه در مقایسه با نمونه شاهد تغییر به طور جزئی وجود داشت.

6)تروپومیوزین (باند 35 کیلودالتونی)

باند ششم باند تروپومیوزین می‌باشد که 10-8 درصد پروتئین‌های میوفیبریلی را به‌خود اختصاص می‌دهد. وظیفه این پروتئین تنظیم برهمکنش بین اکتین و میوزین بوده و در انقباض منظم عضلات نقش دارد. در این مطالعه، تروپومیوزین تحت تاثیر زمان نگهداری و غلظت اسید لاکتیک قرار نگرفت و اثر معنی‌داری نداشت (*p*>0/05). چون این پروتئین نیز جزء پروتئین‌های تنظیم کننده است، احتمالاً پروتئولیز آن نقشی در تردی گوشت نداشته بخصوص‌که پروتئولیز بصورت محدود انجام گردیده است. همچنین شاید تجزیه آن تحت تأثیر pH قرار نگرفت (Yates *et al*.,1983). یافته‌های محققان نشان داد پروتئوزوم و کاتپسین L می‌توانند تروپومیوزین را پروتئولیز کنند (Kemp *et al*., 2010). البته تجزیه این پروتئین توسط کالپاین نیز انجام می‌شود (Goll *et al*., 1983). در پژوهش زاهدی و همکاران (1393) بیان شد که در ابتدا تروپومیوزین توسط کالپاین‌ها و در ادامه احتمالاً توسط کاتپسین‌ها بصورت جزئی تجزیه شده است

7) باند پپتید 30 کیلودالتونی

در پروتئین‌های میوفیبریلی عمده‌ترین تغییر تجزیه‌ای قابل مشاهده روی SDS-PAGE ناپدید شدن تروپونین T (Goll *et al*., 1983 ؛ Koohmaraie, 1994) و پدیدار شدن پپتید 30 کیلودالتونی است. غالباً در نتیجه پروتئولیز تروپونین T بیش از یک پپتید در محدوده 32-28 کیلو دالتونی تولید می‌شود. چون تروپونین T به‌عنوان پروتئین تنظیم‌کننده روی فیلامنت نازک قرار گرفته و در تشکیل اکتومیوزین مداخله می‌کند از همین رو تجزیه آن می‌تواند منجر به ایجاد تغییراتی در تعامل بین فیلامنت‌های نازک و ضخیم گردد (Huff-Lonergan *et al*., 2010).

در بسیاری از منابع تجزیه تروپونین T و ظهور پپتید 30 کیلودالتونی با نیروی برشی در ارتباط بوده و به‌عنوان شاخص خوبی از فعالیت پروتئازی و در نتیجه تردی در نظر گرفته می‌شود (Koohmaraie, 1994,1996؛ Huff-Kemp *et al*., 2010 ,Lonergan *et al*., 2010,).

نتایج آنالیز واریانس این مطالعه نشان داد که با افزایش غلظت اسید لاکتیک شاهد افزایش مساحت باند 30 کیلودالتونی در نمونه‌های مارینادشده با اسید لاکتیک در مقایسه با نمونه‌های بدون اسید بودیم (*p*>0/05). با گذشت زمان و افزایش غلظت اسید لاکتیک، pH عضله کاهش یافته و در نتیجه‌ی فعال شدن کالپاین μ، تروپونین T به شدت پروتئولیز شده و باند 30 کیلودالتون تولید شد. مساحت باند30 کیلودالتون با افزایش مدت نگهداری در غلظت صفر در مقایسه با سایر غلظت‌ها در طی زمان افزایش یافت که بخشی از آن می‌تواند مربوط به تجزیه تروپونین T و بخشی دیگر احتمالاً در نتیجه شکستن پروتئین‌ها و پپتیدهای با وزن مولکولی بالاتر باشد. تولید پپتید 30 کیلو دالتون نیز بطور قابل توجهی تحت تأثیر غلظت اسید درطی مدت زمان قرار گرفت. Berge و همکاران (2001) بیان کردند که باند 31 کیلودالتونی حاصل از تجزیه تروپونین T با تیمار زمان افزایش می‌یابد اما تقریباً تحت تاثیر تیمار اسید لاکتیک قرار نگرفتند.

آنالیز حسی

تأثیر غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک بر نتایج آزمون حسی گوشت شتر (با مدت زمان نگهداری 48 ساعت) در جدول 2 نشان داده است. همان‌طور که از جدول 2 مشخص است اختلاف آماری

معنی‌داری در امتیازهای داده شده برای فاکتورهای رنگ، عطر و طعم و آبداری بین غلظت‌های مختلف اسیدوجود نداشت (p>0/05). Yusopو همکاران (2010) نیز در بررسی تأثیر pHهای مختلف بر پذیرش حسی گوشت ماکیان بر پارامترهای عطر و طعم اختلاف آماری معنی‌داری را گزارش نکردند ولی رنگ نمونه‌های مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار داشتند (p>0/05). سبزی و همکاران (1394) در بررسی آنالیز حسی نمونه‌های گوشت گاو قرار داده شده در آبغوره شاهد اختلاف آماری معنی‌داری در رابطه با رنگ نبودند که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.در این مطالعه ویژگی تردی گوشت تحت تأثیر غلظت اسید قرار گرفت و مقدار امتیاز داده شده به نمونه‌ها با افزایش غلظت اسید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت؛ به‌طوری که نمونه‌های گوشت تیمارشده با اسید در غلظت 1/5 درصد دارای بالاترین امتیاز تردی نسبت به سایر نمونه‌ها بودند (p<0/05)، که با نتایج حاصل از اثر غلظت اسید بر بافت در این پژوهش مطابقت داشت. مشابه این پژوهش Hosseini و Esfahani Mehr (2015) گزارش کردند که نمونه‌های برگر گاو ماریناد شده با اسید لاکتیک و سیتریک دارای تردی بیشتری در مقایسه با نمونه شاهد هستند

تأثیر غلظت بر پذیرش کلی نمونه‌های تیمارشده با اسید لاکتیک معنی دارگزارش گردید(p<0/05). لذا این احتمال می‌رود که بتوان از سطوح غلظتی بالاتر اسید برای ماریناد کردن استفاده نمود بدون اینکه روی پذیرش مصرف‌کننده تأثیر منفی بگذارد. برخلاف نتیجه این پژوهش Klinhom و همکاران (2011) مشاهده کردند که نمونه‌های ماریناد شده گوشت گاو با محلول 0/05 مولار اسید سیتریک، 15 درصد آب لیمو، 15 درصد آب پورکوپین دارای پذیرش کمتری نسبت به نمونه شاهد بودند.

جدول 2- میانگین مقادیر پارامترهای حسی عضله دوسر ران شتر ماریناد شده در غلظت‌های مختلف اسید لاکتیک طی 48 ساعت نگهداری در دمای یخچال.

اسید لاکتیک (٪)	رنگ	عطر	طعم	آبداری	تردی	پذیرش کلی
0	2/0±76/16^{a}	2/0±25/10^{a}	2/0±66/09^{a}	3/0±50/12^{a}	3/0±05/10^{c}	3/0±05/24^{b}
0/5	2/0±79/21^{a}	2/0±29/11^{a}	2/0±75/07^{a}	3/0±57/12^{a}	2/0±05/11^{b}	3/0±03/31^{b}
1	2/0±79/14^{a}	2/0±26/10^{a}	2/0±84/06^{a}	3/0±47/16^{a}	2/0±85/08^{ab}	3/0±27/27^{b}
1/5	2/0±75/17^{a}	2/0±33/12^{a}	2/0±81/05^{a}	3/0±47/14^{a}	4/0±05/08^{a}	4/0±02/30^{a}

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان داد که ماریناد اسید لاکتیک و کلرید سدیم می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب اسیدی مؤثر برای بهبود تردی عضله دوسر ران شتر به‌کار رود. به‌طوری‌که بازارپسندی عضله بیشتر شده و همچنین فراورده‌های تهیه شده نیز از کیفیت بالاتری برخوردار خواهند بود. لذا می‌توان از این ترکیب به‌منظور صنعتی کردن فرایند ترد کردن گوشت شتراستفاده نمود و به این ترتیب با افزایش تقاضای مصرف این گوشت در جهت بهبود سلامت جامعه گام برداشت.

منابع

زاهدی، ی. 1393. بررسی ارتباط بین تغییرات پروتئوم با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و کیفی گوشت شتر. رساله دوره دکتری، دانشگاه فردوسی مشهد.

سلطانی زاده، ن و کدیور، م. 1390. شیمی و فناوری گوشت و فرآورده‌های گوشتی، انتشارات مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.

سبزی، ف. 1394. تأثیر آبغوره بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بافتی عضله دوسرران(Biceps femoris) گاو، پایان نامه ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد

AOAC, 1993. official method 990.26 Hydroxyproline in meat and meat products

AOAC. (2002). Official methods of analysis of the Association of Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, USA.

Asghar, A. and Bhatti, A.R., 1988. Endogenous proteolytic enzymes in skeletal muscle: their significance in muscle physiology and during postmortem aging events in carcasses. *Advances in food research*, 31, pp.343-451

Asghar, A., & Pearson, A. 1981. Influence of ante-and postmofitem treatments upon muscle composition and meat quality. *Advances in food research*, 26: 53.

.Bandman, E., & Zdanis, D. 1988. An immunological method to assess protein degradation in post-mortem muscle. *Meat Science*, 22(1): 1-19.

Berge, P., Ertbjerg, P., Larsen, L. M., Astruc, T., Vignon, X., & Møller, A. J. 2001. Tenderization of beef by lactic acid injected at different times post mortem. *Meat Science*, 57(4): 347-357.

Botha, S. S. C., Hoffman, L., & Britz, T. 2007. Physical meat quality characteristics of hot-deboned ostrich (Struthio

camelus var. domesticus) Muscularis gastrocnemius, pars interna during post-mortem aging. *Meat Science*, 75(4): 709-718.

Burke, R., & Monahan, F. 2003. The tenderisation of shin beef using a citrus juice marinade. *Meat Science*, 63(2): 161-168.

Byrne, C., Troy, D., & Buckley, D. 2000. Postmortem changes in muscle electrical properties of bovine M. longissimus dorsi and their relationship to meat quality attributes and pH fall. *Meat Science*, 54(1): 23-34.

Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B., & Demeyer, D. 1995. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Science*, 39(2): 177-193.

Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B., and Demeyer, D. 1995. Quantification of beef myofibrillar proteins by SDS-PAGE. *Meat Science*, 39: 177-193

Culler, R., Smith, G., & Cross, H. 1978. Relationship of myofibril fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. *Journal of food Science*, 43(4): 1177-1180.

Desmond, E., & Troy, D. 2001. Effect of lactic and citric acid on low-value beef used for emulsion-type meat products. LWT-*Food Science and Technology*, 34(6): 374-379.

Ertbjerg, P., Mielche, M. M., Larsen, L. M., & Moller, A. 1999. Relationship between proteolytic changes and tenderness in prerigor lactic acid marinated beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(7), 970-978.

Faye, B. and Bonnet, P., 2012. Camel sciences and economy in the world: current situation and perspectives. In Proc. 3rd ISOCARD conference. Keynote presentations. 29th January-1st February (pp. 2-15).

Goll, D.E., Otsuka, Y., Nagainis, P.A., Shannon, J.D., Sathe, S.K., and Muguruma, M. 1983. Role of muscle proteinases in maintenance of muscle integrity and mass. *Journal of Food Biochemistry*, 7: 137-177.

Hinkle, J.B., 2010. Acid marination for tenderness enhancement of beef bottom round. Theses and Dissertations in *Animal Science*, p.12.

Hoffman, L. C., Botha, S. C., &Britz, T. J. 2006. Sensory properties of hot-deboned ostrich muscularisgastrocnemius, pars interna. *Meat Science*, 72: 734- 740.

Hoffman, L. C., Muller, M., Cloete, S. W. P., & Brand, M. 2008. Physical and sensory meat quality of South African black ostriches (Struthiocamelusvar. domesticus), Zimbabwean blue ostriches (Struthiocamelusvar. australis) and their hybrid. *Meat Science*, 79: 365- 374

Hosseini, S.E., 2015. The effect of meat marinating with lactic and citric acid on some physicochemical and electrophoretic pattern of beef burger. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 9(2), pp.103-108.

Huff-Lonergan, E., Zhang, W., and Lonergan, S.M. 2010. Biochemistry of postmortem muscle - Lessons on mechanisms of meat tenderization. *Meat Science*, 86: 184-195.

Hwan, S., and Bandman, E. 1989. Studies of Desmin and α-Actinin Degradation in Bovine Semitendinosus Muscle. *Journal of Food Science*, 54: 1426-1430.

Istrati, D., Ciuciu, A.M.S., Ionescu, A., Vizireanu, C. and Dinica, R., 2012. Influence of spice and wine based marinades on bovine Biceps femoris muscle tenderness. *African Journal of Biotechnology*, 11(79), pp.14461-14467.

Kadim, I.T., Al-Hosni, Y., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Khalaf, S.K., Al-Maqbaly, R.S., Al-Sinawi, S.S.H. and Al-Amri, I.S., 2009. Effect of low voltage electrical stimulation on biochemical and quality characteristics of Longissimus thoracis muscle from one-humped Camel (*Camelus dromedaries*). *Meat science*, 82(1), pp.77-85.

Kadim, I.T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Al-Zadjali, S., Annamalai, K. and Mansour, M.H., 2006. Effects of age on composition and quality of muscle Longissimus thoracis of the Omani Arabian camel (*Camelus dromedaries*). *Meat Science*, 73(4), pp.619-625.

Ke, S., Huang, Y., Decker, E. A., & Hultin, H. O. 2009. Impact of citric acid on the tenderness, microstructure and oxidative stability of beef muscle. *Meat Science*, 82(1): 113-118.

Kemp, C.M., Sensky, P.L., Bardsley, R.G., Buttery, P.J., and Parr, T. 2010. Tenderness: An enzymatic view. *Meat Science*, 84: 248-256

Kim, H.W., Choi, Y.S., Choi, J.H., Kim, H.Y., Lee, M.A., Hwang, K.E., Song, D.H., Lim, Y.B. and Kim, C.J., 2013. Tenderization effect of soy sauce on beef M. biceps femoris. *Food chemistry*, 139(1), pp.597-603.

Klinhom P., Klinhom J., Senapa J., & Methawiwat, S, 2011. Influence of citric acid, lemon and porcupine fruit juice on the tenderness and sensory properties of bovine meat. In Proceedings of the 49th Kasetsart University Annual Conference, Kasetsart University, Thailand, 1-4 February, 2011. Volume 4. Subject: Agricultural Extension and Home Economics, 1-10. Kasetsart University.

Knöll, R., Hoshijima, M., and Chien, K.R. 2002. Z-line proteins: implications for additional functions. *European Heart Journal Supplements*, 4: I13-I17.

Koohmaraie, M. 1994. Muscle proteinases and meat aging. *Meat Science*, 36(1): 93-104.

Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature, 227: 680-685.

Klinhom, P., Klinhom, J., Senapa, J. and Methawiwat, S., 2011. Influence of citric acid, lemon and porcupine fruit juice on the tenderness and sensory properties of bovine meat. In Proceedings of the 49th Kasetsart University Annual

Conference, Kasetsart University, Thailand, 1-4 February, 2011. Volume 4. Subject: Agricultural Extension and Home Economics (pp. 1-10). Kasetsart University.

Offer, G., & Knight, P., 1988. The structural basis of water-holding in meat part 2: Drip losses. In R. Lawrie (Ed.). Developments in meat science, Volume 4: 172-243. London, Elsevier Science.

Olson, D. G., Parrish, F. C. Jr., & Stromer, M. H. 1976. Myofibril fragmentation and shear resistance of three bovine muscles during postmortem storage. *Journal of food Science*, 41(5): 1036-1041

Oreskovich, D., Bechtel, P., McKeith, F., Novakofski, J., & Basgall, E. 1992. Marinade pH affects textural properties of beef. *Journal of food Science*, 57(2): 305-311.

Penny, I.F., and Ferguson-Pryce, R. 1979. Measurement of autolysis in beef muscle homogenates. Meat Science, 3: 121-134.

Rao, M., Gault, N., & Kennedy, S. 1989. Variations in water-holding capacity due to changes in the fibre diameter, sarcomere length and connective tissue morphology of some beef muscles under acidic conditions below the ultimate pH. *Meat Science*, 26(1): 19-37.

Saunders, A.B., 1994. The effect of acidification on myofibrillar proteins. *Meat science*, 37(2), pp.271-280.

Sawdy, J.C., Kaiser, S.A., St-Pierre, N.R., and Wick, M.P. 2004. Myofibrillar 1-D fingerprints and myosin heavy chain MS analyses of beef loin at 36 h postmortem correlate with tenderness at 7 days. *Meat Science*, 67: 421-426.

Sentandreu, M. A., Coulis, G., & Ouali, A. 2002. Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness. *Trends in food Science and Technology*, 13: 400-421.

Taylor, R. G., Geesink, G., Thompson, V., Koohmaraie, M., & Goll, D. 1995. Is Z-disk degradation responsible for postmortem tenderization. *Journal of animal science*, 73(5): 1351-1367.

Wheeler, T.L., Shackelford, S.D. and Koohmaraie, M., 2000. Variation in proteolysis, sarcomere length, collagen content, and tenderness among major pork muscles. *Journal of Animal Science*, 78(4), pp.958-965.

Yates, L. D., Greaser, M. L., & Huxley, H. 1983. Quatitative determination of myosin and actin in rabbit skeletal muscle. *Journal of molecular biology*, 168(1): 123-141.

Yusop, S. M., O'Sullivan, M. G., Kerry, J. F., & Kerry, J. P. 2010. Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat. *Meat Science*,

Hamm, R. 1975. Water-holding capacity of meat. In: Meat (D. J. A., Cole, & R. A., Lawrie, eds). Buttersworth Publishers, London, 321-337.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 15, No. 1, Apr. May. 2019, p.37- 54

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 15، شماره 1، فروردین -اردیبهشت 1398 ص. 54-37

Evaluation of lactic acid on textural characteristics and proteolytic pattern of biceps femoris muscle of camel

M Irajifar [1], M. J. Varidi[2 *], M. Varidi[2], Y. Zahedi[3]

Received: 2017.05.24
Accepted: 2018.01.16

Introduction: Camel carcasses has lower fat content in comparison with cow, moreover, camel meat has relatively higher polyunsaturated fatty acids and lower cholesterol contents (Kadim et al., 2009a & 2006). However, calcium amount of camel meat is greater than that of cow, and its lower consumption is partly related to this issue. With increasing demand of camel meat, more attention has been paid to the quality and chemical composition of it. Acid marinade can be used through the diffusion of the solution and its propagation over time as an extensive method to improve the meat tenderness (Yusop et al., 2010). Lactic acid is often used in the meat industry as an antimicrobial during carcass slaughter. In addition, lactic acid can improve meat tenderness (Hinkle et al., 2010). The aim of the present study was to determine the influence of lactic acid and sodium chloride on textural and sensory properties, also and proteolysis pattern of *biceps femoris* muscle of camel.

Materials and Methods: Six 4 to 7 years old camels were transported to the slaughterhouse in Mashhad (Iran). Slaughtering and dressing of camels were carried out according to Islamic methods. All chemicals and reagents in the experiments were of analytical grade and purchased from Merck and Sigma-Aldrich companies. *Biceps femoris* muscle was used as an experimental material, cutting into $2\times2\times5$ cm^3 pieces, and laid in lactic acid solutions (0, 0.5, 1, and 1.5% v/v, all accompanied with 2% w/v NaCl) at a ratio of 1 to 4 (meat to marination solution) within plastic bags. Marination process was carried out for 0, 24, 48, 72 h at 4 °C. The meats were then removed from the marinade and dried lightly. After that, moisture, ash, protein and fat contents of the meat were specified by AOAC (2002). Shear force was measured by TA.XT plus texture analyzer (Stable Micro Systems, UK) provided with a Warner-Bratzler shear force blade method in order to evaluation of meat tenderness (Byrne et al., 2000). Myofibrillar fragmentation index (MFI) was determined as described by zahedi *et al.* (1393). Sarcomere length was measured with the method of Botha *et al.* (2007). One-dimensional gel electrophoresis was determined as described by zahedi *et al.* (*1393*). Collagen content was specified by AOAC (1993). Sensory properties including color, texture, flavor, juiciness and overall acceptance were performed using a 5-point structured hedonic scale (Hoffman *et al.*, 2006 & 2008). One-way analysis of variance (ANOVA) was used to determine the significant differences between treatments using SPSS software (version 19). Duncan's multiple range test was used to compare the means.

Results and discussion: Acid concentration and marination time had a significant effect ($p<0.05$) on sarcomere length. It was likely due to the fact that the addition of acid led to increase in pure positive charges on myofibrils and cytoskeletal proteins. As a result, more repulsive forces were generated between the protein molecules of myofibrils. Eventually, myofibrils swelling caused distancing Z lines from one another, and increasing the sarcomere length (Ke et al., 2008). The results of analysis of variance showed that the concentration of lactic acid had a significant effect on MFI ($p<0.05$), and MFI value was less than zero at 0% concentration, however, it was non-significant in relation to the time ($p>0.05$). The higher MFI values of the marinated samples may be due to the proteolysis of myofibrile proteins using D-cathepsins which activated at acidic pH (range 3-6). Meat samples marinated in the highest concentration for 72 h showed the lowest WBSF ($p<0.05$). The tenderising mechanism of acid marinades was believed to be including weakening of structures due to swelling of meat, increasing proteolysis by cathepsins, and conversion of collagen to gelatin at low pH during cooking (Berge et al., 2001; Offer & Knight, 1988). The retention time and acid concentration did not have a significant effect ($p>0.05$) on the collagen amount of lactic acid treated samples. It was likely that low acid concentration, although affecting some of the parameters, is not suitable for degradation of connective tissue (Hinkle et al., 2010). Sensory analysis showed that tenderness of the samples marinated at with 1.5% acid received the highest score ($p<0.05$), which was consistent with the instrumental results. Acid concentration

1 and 2. PhD Student, Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and natural resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
(*- Corresponding Author Email: mjvaridi@um.ac.ir)

significantly affected ($p<0.05$) total acceptance of the samples. Higher levels of acid can be used for marinating without adversely affecting the consumer acceptance. Results from SDS-PAGE showed that number of seven bands on gels, on average, were belonged to intact proteins, and other bands were considered as peptides which resulted from proteins proteolysis, especially heavy proteins. Also, time had non-significant effect on band area of myosin heavy chain ($p>0.05$), while, acid concentration had a significant effect on the area of this protein ($p<0.05$). The band area of proteins C, α-actinin and actin proteins enhanced as a function of acid concentration and marination time ($p<0.05$).

In conclusion, we can claim that lactic acid and sodium chloride can be used as an effective acidic marination to improve *biceps femoris* muscle of camel meat. This method can be advice as a trick for tenderizing camel meat in household consumptions, restaurants and also meat industry, thereby increasing demand for camel meat in order to gain further healthy benefits of it.

Keywords: Lactic acid, biceps femoris, Camel.